

(様式第 13 号)

## 学 位 論 文 要 旨

氏名: 田口 智康

題目: Effects of Plant Volatile Compounds on Fungal Growth and Patulin Production of *Penicillium expansum* in Apple Juice  
(植物が生産する揮発性化合物によるリンゴ果汁における *Penicillium expansum* の生育およびパツリン産生に対する影響)

---

リンゴやリンゴ製品におけるカビ毒、パツリンの汚染は、食品企業、消費者ともに最大の関心事の 1 つである。そのため、食品企業ではパツリン汚染防止およびその主原因となるカビ、*Penicillium expansum* の感染防除技術の開発に力を注いできた。しかし、リンゴのパツリン汚染はいまだ十分に制御できていない。そこで、リンゴのパツリン汚染を制御する新しい試みとして、リンゴ果汁での *P. expansum* のパツリン産生に対する、植物が生産する揮発性化合物の影響を調査した。

植物の香気成分の一部は、抗細菌および抗カビ活性を有していることが広く知られている。特に、幾つかのアルデヒド化合物は微生物に対して高い効果を有していることが見つかっている。そこで、炭素数 3-10 個からなる 16 種類の脂肪族アルデヒド化合物が、*P. expansum* の増殖およびパツリン産生に及ぼす影響を調査した。*P. expansum* の胞子を 2-プロペナル、(E)-2-ブテナール、(E)-2-ペンテナール、および(E)-2-ヘキセナルを添加したリンゴ果汁培地に植菌したところ、カビの増殖が阻害され、同時にパツリン産生も観察されなかった。各アルケナル化合物のリンゴ果汁培地中での最小阻害濃度は、それぞれ 89、713、950、そして 815  $\mu\text{mol/L}$  であった。生体染色の結果、これらのアルケナル化合物は 4 時間以内にカビ菌糸体を死滅した。同様に、これらのアルケナル化合物で胞子を処理したところ、0.5-2 日以内という短期間の処理で胞子が発芽能を失うことが判明した。一方、炭素数 8-10 個からなる脂肪族アルデヒド化合物はカビの増殖に影響を与えることなく、パツリン産生量を有意に増加することが判明した。2.3 mmol/L のオクタナルおよび 790  $\mu\text{mol/L}$  の(E)-2-オクテナールは、無添加の対照に対して、培養液中のパツリン濃度をそれぞれ 8.6 倍、7.8 倍に増加した。続いて、2.3 mmol/L のオクタナルを添加した培地で 3.5、5、そして 7 日培養したカビ菌糸体における、*P. expansum* のパツリン生合成に

関わる遺伝子の発現状況を調査した。その結果、3.5 日および 5 日培養した菌糸体では、生合成系路の第 1 段階で作用する 6-メチルサリチル酸合成酵素をコードしている *msas* 遺伝子の発現量が、対照と比べて明らかに増加していた。しかしながら、7 日培養した菌糸体では、*msas* 発現量の増加は観察されなかった。同様に、他の 2 種類の遺伝子、*IDH* および *peab1* の発現量は、7 日間の培養期間を通じて増加しなかった。これらの結果は、オクタナールなど一部のアルデヒド化合物の培地への添加によるパツリン産生量の増加は、*msas* 発現量の増加に起因していることを示している。

パツリン産生の促進に最も効果を示したオクタナール濃度は 2.3 mmol/L であったが、6 種類の市販リンゴ果汁に含まれるオクタナール濃度は最大でも 0.3  $\mu$ mol/L であった。つまり、脂肪族アルデヒド化合物は、実際のリンゴ果汁中の濃度では *P. expansum* のパツリン産生を促進しないことが判明した。

そこで続いて、6 種類の市販リンゴ果汁から調製したリンゴ果汁培地で *P. expansum* を培養したところ、リンゴ果汁の違いによるカビ生育への影響は小さかった。対して、パツリン産生へのリンゴ果汁の違いによる影響は大きく、最もパツリンが産生された果汁中のパツリン濃度は、最も低かった果汁中の 7.3 倍であった。さらに、各リンゴ果汁を減圧濃縮処理した後、ミリ Q 水を加えて還元処理した濃縮還元リンゴ果汁から 6 種類の培地を調製して *P. expansum* を培養し、カビの生育とパツリン産生に及ぼす影響を調べた。その結果、全てのリンゴ果汁において、濃縮還元処理によってパツリン産生量は減少し、カビの生育は促進される傾向が観察された。このことは、揮発性化合物がパツリン産生を促進し、カビの生育を抑制することを示唆している。そこで、リンゴ果汁に含まれる揮発性化合物を GC-MS で分析したところ、57 化合物が検出された。そのうち、濃縮還元処理によって最も濃度が減少した 13 化合物を選択し、パツリン産生の促進効果を調べたところ、2-メチルプロピル酢酸、エチル酪酸、エチル 2-メチル酪酸、3-メチル-1-ブタノール、ヘキシル酢酸、1-ヘキサノールおよび 2-メチル酪酸の 7 化合物は、濃度依存的に *P. expansum* のパツリン産生を促進し、特に 2-メチル酪酸とエチル 2-メチル酪酸の 2 化合物はその効果が高かった。これらの結果は、*P. expansum* のパツリン産生は、リンゴ果汁中の揮発性化合物の組成の影響を大きく受けることを示している。

本研究の結果は、*P. expansum* のパツリン産生を促進する化合物を除いたリンゴの品種を選抜育種することで、パツリン汚染の減少を達成できることを示している。これが達成されれば、リンゴおよびリンゴ果汁のパツリン汚染による健康危害の減少や経済的損失の抑制が可能となる。